

1/9/1 DIALOG(R)File 351:Derwent WPI (c) 2002 Thomson Derwent. All rts. reserv.

002572163

WPI Acc No: 1980-90182C/198051

Glyceryl 2-para-chlorophenoxy-isobutyrate-1,3-dinicotinate -
hypolipaemic and hypocholesterolaemic used to treat atherosclerosis,
hyperlipoproteinaemia and high triglyceride plasma levels

Patent Assignee: SOC ESPAN ESP FARMA (ESES-N)

Number of Countries: 002 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
BE 884722	A	19801130				198051 B
FR 2476095	A	19810821				198139

Priority Applications (No Type Date): ES 488665 A 19800215

Abstract (Basic): BE 884722 A

The 2-para-chlorophenoxy-isobutyrate-1,3 dinicotinate of glycerol having formula (I) is new. Used in treatment of atherosclerosis, type (III) hyperlipoproteinaemia and troubles caused by high levels of plasmatriglycerides. (I) is less toxic and more active than nicotinic acid or clofibrate. (I) is administered to adults usually orally in unit doses of 500-250mg to give daily doses of 1-2G.

Title Terms: GLYCERYL; PARA; CHLORO; PHENOXY; ISOBUTYRATE; DI; NICOTINATE; HYPOLIPAEMIC; HYPOCHOLESTEROLAEMIC; TREAT; ATHEROSCLEROSIS; HYPERLIPOPROTEINAEMIA; HIGH; TRI; GLYCERIDE; PLASMA; LEVEL

Derwent Class: B03

International Patent Class (Additional): A61K-031/43; C07D-401/12

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B07-D04; B12-H03

Chemical Fragment Codes (M2):

01 J2 H5 H6 M313 M314 M332 M331 M322 M280 M342 M340 M343 M380 M392 F431
F499 G100 M531 J211 J212 J271 J272 J273 H541 H602 M510 M522 M540
P814 M710 M413 M902

Derwent WPI (Dialog® File 351): (c) 2002 Thomson Derwent. All rights reserved.

© 2002 The Dialog Corporation

BEST AVAILABLE COPY



N° 894.722

Classif. Internat.: C 04 D / A 61 K

Mis en lecture le: 01-12-1980

Le Ministre des Affaires Économiques,

Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention ;

Vu la Convention d'Union pour la Protection de la Propriété Industrielle ;

Vu le procès-verbal dressé le 12 août 1980 à 15 h. 25

au greffe du Gouvernement provincial d'Anvers ;

ARRÊTE :

Article 1. — Il est délivré à la Sté dite : SOCIEDAD ESPANOLA DE ESPECIALIDADES FARMACO-TERAPEUTICAS, S.A.

173 calle San Antonio Ma Claret, Barcelona - 13 (Espagne)

repr. par Mr M. Bockstael à Anvers ;

un brevet d'invention pour : Nouvel ester mixte symétrique de 1,2,3-trihydroxypropane, son procédé d'obtention et ses applications thérapeutiques

qu'elle déclare avoir fait l'objet d'une demande de brevet déposée en Espagne le 15 février 1980 n° 488.665.

Article 2. — Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention (mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 29 août 1980.

PAR DÉLÉGATION SPÉCIALE :

Le Directeur

L. SALPÊTEUR

MEMOIRE DESCRIPTIF

déposé à l'appui d'une demande de

BREVET BELGE

formulée par

Société dite: SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ESPECIALIDADES
FARMACO-TERAPEUTICAS, S.A.

pour

"Nouvel ester mixte symétrique du 1,2,3-trihydroxypropane,
son procédé d'obtention et ses applications thérapeutiques".

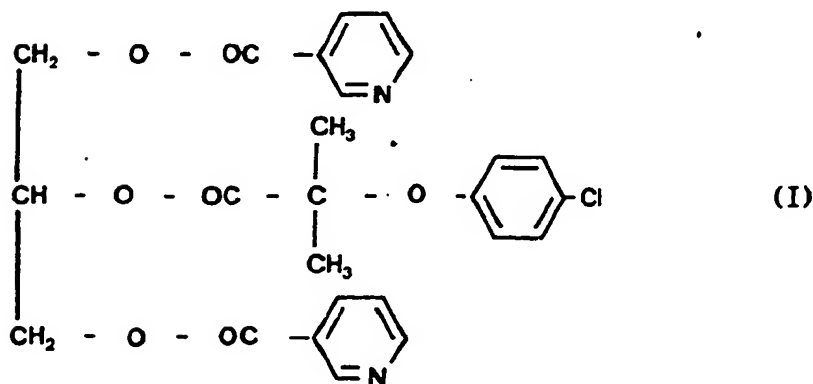
comme

BREVET D'INVENTION

Priorité de la demande de brevet déposée en Espagne le
15 février 1980 sous le n°488.665.

La présente invention concerne un nouvel ester mixte symétrique du 1,2,3-trihydroxypropane, le 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane (I), son procédé d'obtention et ses applications thérapeutiques. Ledit composé est normolypémiant et anticholestérolémique, et il exerce une action bienfaisante dans le traitement des différents types d'hyperlipémies et d'hypercholestérolémies primaires ou secondaires, en prévention de l'athérosclérose, une des maladies vasculaires actuellement les plus importantes par sa signification clinique.

Le 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane, (I), est un nouveau composé qui possède la formule structurale suivante :



004722

- 3 -

INTRODUCTION

L'athérosclérose est une des affections artérielles les plus fréquentes de notre temps, surtout dans les pays développés.

Cette maladie extrêmement répandue est aujourd'hui la forme majeure du vieillissement de l'être humain et, par son étiopathogénie, le régime alimentaire a une très grande importance dans son évolution ; pour ces raisons, il n'est pas surprenant qu'elle représente un problème croissant dans une société où la vie moyenne individuelle s'est considérablement allongée, et dont les habitudes alimentaires deviennent plus abondantes et plus riches.

La transcendance de l'athérosclérose devient évidente si l'on considère qu'elle constitue la cause la plus fréquente de maladie et de mortalité après quarante ans, et l'on pense que 95 % des thromboses coronaires sont dues à l'athérosclérose, 85 % des claudications crurales intermittentes à l'athérosclérose oblitératrice des jambes et 75 % des apoplexies cérébrales à l'athérome de cerveau (Farreras 1967).

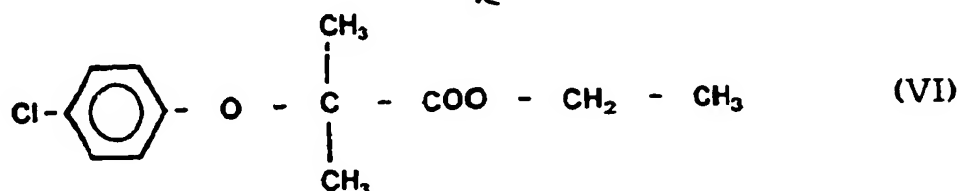
Page soutient que l'athérosclérose est le plus grand meurtrier de l'homme civilisé (Farreras 1967).

L'importance de cette affection qui dépasse le domaine clinique pour embrasser le champ social et économique, justifie l'effort actuel de la recherche qui tente de mettre en évidence ses mécanismes étiopathogéniques et de perfectionner la thérapie basée sur des traitements de régime alimentaire et pharmacologiques.

Tant que les mécanismes étiologiques de l'athérosclérose n'auront pas été clairement démontrés, la pharmacologie de cette maladie, restera basée sur la constatation clinique de la coexistence de l'affection artérielle avec un trouble du métabolisme des lipides, surtout du cholestérol qui se dépose sur les parois artérielles.

Pour cette raison, la pharmacologie antiathérosclérotique s'efforce de combattre le composant dyslipidémique au moyen de produits capables de provoquer une atténuation des effets des lipides sanguins et plus particulièrement du cholestérol (agents hypolipémiants et hypocholestérolémiques).

Une statistique récente publiée à l'occasion du Congrès International d'Athérosclérose montrait clairement qu'on obtenait une augmentation significative de la survivance dans des cas de thromboses coronaires lorsque les malades étaient traités avec du "Clofibrate" (VI), (1 à 2 gr. par jour), ou avec de l'acide nicotinique (V), (1 à 6 gr. par jour). (Green et Margetts 1960).



Le mécanisme de l'action hypolipémiante de ces médicaments semble être différent.

L'acide clofibrique (acide p-chloropénénoxyisobutyrique) inhibe la biosynthèse du cholestérol lors d'une phase antérieure à la formation de l'acide mévalonique et en même temps réduit la concentration de triglycérides dans le sang et inhibe la formation de thrombes. (Throp Waring, 1962).

Il existe plusieurs théories au sujet du mécanisme d'action de l'acide nicotinique, depuis les premières hypothèses d'une augmentation de l'oxydation du cholestérol (Altshul, 1958), à la théorie de l'interférence dans la synthèse du cholestérol dans le foie à partir de l'acétate actif (Goldsmith 1965), et, plus récemment, aux travaux de Carlson, 1968.

Selon ces travaux, l'acide nicotinique inhibe la lipolyse dans le tissu adipeux ce qui a pour conséquence une réduction de la disponibilité d'acides gras libres dans tous les tissus, moyennant quoi on inhiberait la synthèse hépatique des lipoprotéines d'une très faible densité (VLDL) avec une réduction conséquente de ces derniers et des triglycérides dans le plasma. Même la transformation des VLDL en lipoprotéines de faible densité (LDL) pourrait devenir plus lente sous les effets de l'acide nicotinique, ce qui expliquerait la diminution des niveaux plasmatiques de cholestérol et de phospholipides.

Ces données préliminaires ont fait concevoir l'idée de réaliser la synthèse d'une molécule qui puisse rassembler l'efficacité de l'acide

004722

- 5 - /

clofibrique et de l'acide nicotinique, et, après de nombreux travaux et essais, on a obtenu la synthèse du 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1, 3-dinicotinate de trihydroxypropane, (I). Dans cette nouvelle molécule (I), le rapport quantitatif de ses composants est celui d'une partie d'acide clofibrique pour deux parties d'acide nicotinique avec l'intention de maintenir le rapport qui existe entre les doses habituelles respectives.

Le 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane interfère dans le métabolisme lipidique au moyen des différents mécanismes d'action caractéristiques de l'acide clofibrique et de l'acide nicotinique qui se complètent réciproquement.

Les effets secondaires produits par l'acide nicotinique (flushing, prurit, pyrosis et algies gastriques, céphalée) diminuent habituellement lorsque cet acide est estérifié avec des résidus relativement lourds qui ralentissent sa vitesse d'échange.

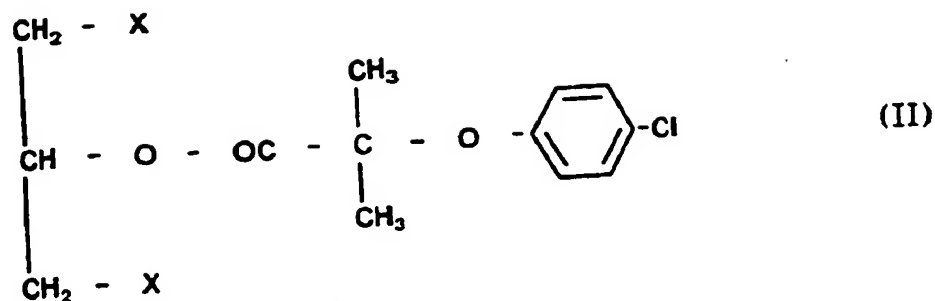
Ces considérations portaient à espérer que la nouvelle molécule synthétisée, (I), serait plus active en tant qu'antilipémiant et anticholestérolémiant et moins toxique que les matières (V) et (VI) qui la composent.

Les résultats pharmacologiques ont confirmé les hypothèses précédentes en démontrant que le 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1, 3-dinicotinate de trihydroxypropane est effectivement plus actif et moins toxique que ses composants.

S Y N T H E S E C H I M I Q U E

Pour obtenir le 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1, 3-dinicotinate de trihydroxypropane (I), on procède à une réaction entre le 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1',3'-dihalogène-isopropyle (II) et le sel nicotinique d'un métal alcalin dans un solvant approprié tel que le diméthylsulfoxyde, la diméthylformamide, le tétrahydrofurane, etc...

Le 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1'-3'-dihalogène-isopropyle (II) possède la formule suivante :



Ledit composé (II), s'obtient à partir du 1,3-dihalogène-2-propanol (III) comme produit de départ.
La formule structurale du composé (III) est la suivante :



où X représente un halogène comme I - Br - Cl - F.

Comme on l'a précédemment indiqué, pour obtenir le composé intermédiaire (II), on part du composé (III) et on procède à une réaction d'estérification avec l'acide p-chlorophénoxyisobutyrique (IV).





- 3 -

dans un milieu solvant inerte comme le benzène, le toluène, le xilène, etc..., avec les catalyseurs et les systèmes de séparation de l'eau produite dans la réaction appropriés.

Après avoir exposé l'essentiel du procédé, on décrit ci-après des exemples non limitatifs de mise en oeuvre de ce dernier qui est évidemment industrialisable, pour aboutir à l'obtention de quantités plus grandes que celles qu'on y décrit.

E X E M P L E S

A) Préparation du 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1',3'-dihalogène-isopropyle (II).

Il existe de nombreuses façons concrètes pour obtenir le composé (II), parmi lesquelles sont à souligner les exemples suivants :

Exemple A.1) : Préparation du 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1',3'-dichloroisopropyle.

Dans un ballon de 2 litres pourvu d'un système de reflux avec un séparateur d'eau du type Dean-Stark, on introduit 86 g (0,667 moles) de 1,3-dichloropropane-2-ol, 75,30 g (0,667 moles) d'acide p-chlorophénoxyisobutyrique, 1 litre de benzène et 5 g d'acide p-toluènesulfonique. La solution obtenue est chauffée au reflux pendant 48 heures, et on collecte l'eau qui se forme dans le parcours de la réaction. La solution benzénique qui en résulte est d'abord lavée avec une solution aqueuse de carbonate de soude (jusqu'au pH alcalin de l'eau de lavage) et, ensuite, avec de l'eau. Elle est séchée sur du sulfate sodique anhydre, et le benzène est éliminé par distillation sous pression réduite. On obtient ainsi 150 g (rendement 72 %) d'un liquide jaunâtre, un peu visqueux, qui en chromatographie sur couche mince montre une tache unique (avec des solvants différents) et dont le spectre de I.R. montre comme information plus spécifique la présence des bandes suivantes :

004722

- 8 -

1743 cm^{-1} , carbonyle ester
 1590-1580, 1485, double liaison aromatique
 1380-1370 cm^{-1} , groupes méthyliques isobutirate
 1235 cm^{-1} , C-O éther

Ledit produit contient 33,1 % de chlore (pourcentage calculé : 32,7 %). D'autre part, il présente une richesse, calculée par la chromatographie, de gaz-liquide, supérieure à 98 %.

Exemple A.2) : Préparation du 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1',3'-dichloroisopropyle.

Dans un ballon de 2 litres pourvu d'un réfrigérant de reflux, on introduit : 86 g (0,667 moles) de 1,3-dichloropropane-2-ol ; 75,30 g (0,667 moles) d'acide p-chlorophénoxyisobutyrique ; 1 litre de chloroforme et 15 g d'acide sulfurique concentré. Le mélange obtenu est chauffé au reflux pendant 48 heures ; on le laisse refroidir et il est ensuite versé sur 2 litres d'eau glacée. La phase chloroformique est décantée et lavée successivement avec de l'eau, une solution aqueuse de carbonate de soude (jusqu'au pH alcalin de l'eau de lavage) et une fois encore avec de l'eau. Elle est ensuite séchée sur du sulfate sodique anhydre et le chloroforme est éliminé par distillation sous pression réduite. De cette façon, on obtient 193 g (rendement 93 %) d'un liquide jaunâtre un peu visqueux, dont les propriétés chimiques coïncident totalement avec celles qui correspondent au produit obtenu selon l'exemple A.1.

Exemple A.3) : Préparation du 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1',3'-dibromoisopropyle.

Dans un ballon de 2 litres pourvu d'un réfrigérant de reflux, on introduit : 152,6 g (0,70 moles) de 1,3-dibromopropane-2-ol ; 150,1 g (0,70 moles) d'acide p-chlorophénoxyisobutyrique ; 1 litre de chloroforme et 15 g d'acide sulfurique concentré. Le mélange obtenu est chauffé au reflux pendant 48 heures ; on le laisse refroidir, et il est ensuite versé sur 2 litres d'eau glacée. On décante la phase chloroformique et elle est successivement lavée avec de l'eau, une solution aqueuse de carbonate de soude (jusqu'au pH alcalin de l'eau de lavage) et une fois encore avec de l'eau. Elle est ensuite séchée sur du sulfate sodique anhydre et le

004722

chloroforme est éliminé par distillation sous pression réduite. On obtient 252 g (rendement : 87 %) d'un liquide jaunâtre visqueux, dont le spectre de IR présente comme information plus spécifique la présence des bandes suivantes :

1745 cm^{-1} , carbonyle ester
 1590-1580, 1485 cm^{-1} double liaison aromatique
 1380-1370 cm^{-1} , groupes méthyliques isobutirate
 1235 cm^{-1} , C-O éther

Ledit produit contient 38 % de brome (pourcentage calculé : 38,6 %) et 8,52 % de chlore (pourcentage calculé : 8,55 %). D'autre part, il présente une richesse de gaz-liquide, calculée par la chromatographie, supérieure à 98 %.

B) Préparation du 2-p-Chlorophénoxyisobutyrate-
 1,3-dinicotinate de trihydroxypropane (Composé I)

De même, il existe plusieurs façons concrètes d'obtenir le composé (I), parmi lesquelles sont à souligner les exemples suivants :

Exemple B.1) : Préparation du 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-
 1,3-dinicotinate de trihydroxypropane (Composé I)

Dans un ballon de 2 litres, pourvu d'un dispositif d'agitation mécanique et de reflux, on dissout 157 g (0,482 moles) de 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1',3'-dichloroisopropyle dans 950 ml de diméthylformamide et on y suspend 154 g (1,06 moles) de nicotinate de sodium.

On chauffe la suspension au reflux pendant 4 heures, en maintenant une intense agitation mécanique. On laisse refroidir la masse de réaction ; on filtre ; on distille le diméthylformamide à pression réduite et on extrait le résidu avec de l'acide chlorhydrique dilué (10 %).

La solution acide est lavée avec 2 x 50 cc d'éther éthylique et alcalinisée à pH 8 avec de l'ammoniaque concentrée. Ensuite, on l'extrait avec de l'acétate d'éthyle, on la sèche d'abord sur du sulfate sodique anhydre, puis on augmente le degré de siccité par passage dans un rotavapeur.

SECRET

Le résidu est cristallisé dans de l'alcool-éther isopropylique, précédé d'ébullition à l'aide de charbon actif. On obtient 125 g (rendement 52 %) d'un solide blanc jaunâtre qui fond à 100°C et dont le spectre de IR présente comme information plus spécifique la présence des bandes suivantes :

- 1750 cm, carbonyle ester clofibrate
- 1720 cm, carbonyle ester nicotinique
- 1590-1485 anneau aromatique
- 1235 cm éther aryle
- 1370-1390 méthylisobutyrate

Ledit produit montre une tache unique en chromatographie sur couche mince, présentant un $R_f = 0,35$ quand on emploie l'acétate d'éthyle comme éluant.

L'équivalent de saponification trouvé est 166, la valeur calculée pour la structure étant de 166,7.

Analyse élémentaire :

Calculé : C, 60,1 % ; H, 4,80 % ; N, 5,61 % ; Cl, 7,12 %

Trouvé : C, 60,3 % ; H, 4,74 % ; N, 5,67 % ; Cl, 7,23 %

Exemple B.2) : Préparation du 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane (Composé I)

Dans un ballon de 2 litres à trois cols pourvu d'un réfrigérant de reflux et d'un agitateur mécanique, on dissout 145 g (0,350 moles) de 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1°,3° dibromoisopropyle dans 800 ml de diméthylformamide et on y suspend 112 g (0,77 moles) de nicotinate de sodium.

On chauffe la suspension au reflux, en maintenant une intense agitation mécanique. On laisse refroidir le mélange de réaction ; on filtre ; on distille le diméthylformamide à pression réduite et on extrait le résidu avec de l'acide chlorhydrique dilué (10 %). La solution acide est lavée avec 2 x 50 cc d'éther éthylique et alcalinisée jusqu'à pH = 8 avec de l'ammoniaque concentrée. On l'extrait ensuite avec de l'acétate d'éthyle, on la sèche d'abord sur du sulfate sodique anhydre et on augmente le degré de siccité par passage dans le rotavapeur.

Le résidu est recristallisé dans de l'alcool-éther isopropylique, précédé d'ébullition à l'aide de charbon actif. On obtient 84 g (rendement : 48 %) d'un solide blanc jaunâtre, qui fond à 100°C et dont les propriétés chimiques et données analytiques coïncident totalement avec celles qui

004722

- 12 -

correspondent au produit obtenu selon l'exemple B.1.

PHARMACOLOGIE

Après avoir défini les caractéristiques chimiques de l'ester mixte des acides clofibrrique (IV) et nicotinique, (V), tous les deux agents remarquables hypocholestérolémiques et hypolipémiants, on a étudié les propriétés pharmacologiques du nouveau composé (I), considérées du point de vue hypolipémiant et hypocholestérolémiant. D'autre part, on a réalisé des essais de toxicité aiguë et de toxicité chronique, ces derniers sur deux espèces animales, ainsi que des essais tératologiques et pharmacocinétiques.

On résume ci-après les résultats des épreuves de toxicité et activité pharmacologique du 2-p-chlorophénoxyisobutyrate 1,3-dinicotinate de trihydroxypropane (I).

TOXICITE AIGUE

Chez la souris, par voie orale, la DL_{50} , autant en animaux mâles qu'en femelles est supérieure à 4000 mg/kg.

Les mêmes résultats ont été obtenus chez le rat par voie orale, autant en animaux mâles qu'en femelles.

TOXICITE CHRONIQUE CHEZ LE LAPIN.

La toxicité chronique du nouveau produit (I) a été étudiée comparativement avec celle du clofibrate (VI) par voie orale, pendant une période de quatre mois.

I) Protocole.

Animal : Lapin NZ, de poids initial 2,110-2,405 Kg.

Nombre d'animaux : 16 par groupe de traitement : 8 mâles et 8 femelles.

Traitements : Les produits ont été incorporés aux rations alimentaires et on a constitué les groupes de traitement suivants :

- Control : Avoine pour lapin.
- Clofibrate : 250 mg/kg incorporé dans l'avoine.
- Produit I : 50 mg/kg incorporé dans l'avoine.
- Produit I : 125 mg/kg incorporé dans l'avoine.
- Produit I : 250 mg/kg incorporé dans l'avoine.

II) Essais.

A) Journallement :

Examen général et contrôle de poids.

B) A la fin des quatre mois d'administration :

B-1) : Hématologiques :

Hématocrite, recensement globulaire, formule leucocytaire, volume globulaire moyen, concentration moyenne d'hémoglobine globulaire, vitesse de sédimentation globulaire.

B-2) : Biochimiques :

En sang total : hémoglobine.

En plasma : Temps de Quick

En sérum : Protéides totaux, glucose, urée, acide urique, transaminases (GOT et GPT), phosphatases alcalines, cholestérol et lipides totaux.

B-3) : Urinaires :

pH, sodium, potassium, calcium, nitrites, protéines, glucose, corps cétoniques, urobilinogène, bilirubine et sang.

B-4) : Nécropsie.

Observation anatomopathologique et histologie des organes suivants : cœur, reins, poumon, rate, estomac, iléon, colon, ovaires, cerveau et cervelet.

III) Résultats et conclusions.

A) Lors du contrôle journalier, on n'a pas observé de modifications d'aspect, de conduite et de poids des groupes traités par rapport au groupe de contrôle.

004722

B-1 et B-2). Les analyses hématologiques et biochimiques se trouvent résumées dans les tableaux 1, 2, 3 ci-après, et on n'observe pas d'altérations importantes dans aucun des cas.

A la dose de 250 mg/kg, le Clofibrate d'éthyle provoque une diminution du nombre d'hématies et dans l'hématocrite, ainsi qu'une augmentation significative dans l'hémoglobine globulaire moyenne. Le nouveau produit (I) provoque dans les trois doses testées une diminution significative du nombre d'hématies quoique cette diminution soit inférieure à celle obtenue par l'administration de Clofibrate d'éthyle.

TABLEAU 1

LAPIN

Valeurs exprimées : moyenne \pm erreur standard de la moyenne

SEX	Traitement	Dose par jour mg/Kg	Hématies $n \times 10^{-6}$ mm ³	Hémoglobine g/100 ml	Hématocrite %	V.G.M. μ^3	H.G.M. $\mu\mu g$	C.M.H.G. %
♀	Contrôle	-	5,74 $\pm 0,177$	11,14 $\pm 0,382$	36,75 $\pm 1,013$	64,5 $\pm 2,41$	19,1 $\pm 0,77$	30,3 $\pm 0,94$
	Clofi- brate	250	5,96 $\pm 0,245$	10,31 $\pm 0,427$	36 $\pm 0,945$	60,9 $\pm 2,17$	17,0 $\pm 0,69$	28,7 $\pm 0,71$
	Composé I	50	5,99 $\pm 0,26$	10,36 $\pm 0,353$	34,62 $\pm 1,293$	58,4 $\pm 3,292$	17,4 $\pm 1,035$	30,1 $\pm 1,95$
		125	5,88 $\pm 0,137$	10,55 $\pm 0,289$	37,5 $\pm 1,195$	64 $\pm 2,55$	18,1 $\pm 0,67$	28,1 $\pm 1,01$
		250	5,46 $\pm 0,226$	10,71 $\pm 0,204$	34,62 $\pm 1,133$	64,5 $\pm 4,05$	19,9 $\pm 0,97$	31,1 $\pm 1,19$
♂	Contrôle	-	6,11 $\pm 0,106$	11,57 $\pm 0,356$	38,88 $\pm 0,789$	63,8 $\pm 1,94$	19 $\pm 0,9$	29,7 $\pm 0,84$
	Clofi- brate	250	5,28* $\pm 0,230$	10,78 $\pm 0,466$	35,43* $\pm 1,360$	67,4 $\pm 1,67$	21,5* $\pm 0,43$	31,8 $\pm 1,38$
	Composé I	50	5,62* $\pm 0,184$	11,20 $\pm 0,483$	37,5 $\pm 1,524$	66,8 $\pm 1,51$	20 $\pm 0,5$	29,8 $\pm 1,21$
		125	5,34* $\pm 0,168$	10,46 $\pm 0,466$	36,5 $\pm 0,865$	68,6 $\pm 1,53$	19,9 $\pm 0,88$	29 $\pm 1,02$
		250	5,62* $\pm 0,188$	11,04 $\pm 0,259$	36,62 $\pm 1,224$	65,9 $\pm 3,35$	19,6 $\pm 0,98$	30,4 $\pm 0,94$

* Ecart significatif par rapport au contrôle, d'après la "t" de student.

004722

- 15 - A

TABLEAU 2

LAPIN

S E X E	Traitement	Dose par jour mg/Kg	V.S.G.		Temps de Quick sg
			1a. H mm	2a. H mm	
♀	Contrôle	- -	1 ±0,11	1,9 ±0,24	6,0 ±0,08
	Clofibrate	250	1,07 ±0,07	1,86 ±0,21	5,95 ±0,07
	Composé I	50	1,38 ±0,206	2,5 ±0,189	5,9 ±0,09
		125	1,31 ±0,27	2,375 ±0,39	5,96 ±0,08
		250	1,25 ±0,13	2,06 ±0,15	5,88 ±0,07
♂	Contrôle	-	0,93 ±0,23	1,71 ±0,240	6 ±0,125
	Clofibrate	250	1,07 ±0,17	2,14 ±0,389	5,78 ±0,135
	Composé I	50	1,06 ±0,113	1,8 ±0,187	6,04 ±0,080
		125	0,93 ±0,13	2,21 ±0,474	6,12 ±0,229
		250	0,86 ±0,210	1,79 ±0,325	6,44 ±0,258

LAPIN

SEX	Traitement	Leucocytes $Q \times 10^{-3}$ mm ³	Eosino- phyles %	Lymphocy- tes %	Neutrophy- les %	Monocy- tes %	Basophy- les %
♀	Contrôle	7,29 ±0,774	2 ±0,28	65 ±3	28 ±3	4 ±0,56	0,25 ±0,13
	Clofibrate 250 mg/ Kg. / jour	5,72 ±0,596	0,69* ±0,132	82* ±5	16 ±5	0,75* ±0,211	0
	Composé I 50 mg/ Kg. / jour	5,64 ±1,024	2,12 ±2,828	68 ±4	27 ±4	3,19 ±0,95	0,06 ±0,06
	Composé I 125 mg/ Kg. / jour	6,94 ±1,189	1,25 ±0,354	66 ±7	27 ±6	4,5 ±8,72	0
	Composé I 250 mg/ Kg. / jour	6,3 ±0,495	1,69 ±2,822	82* ±19	14 ±2,3	1,06* ±0,26	0,44 ±0,17
♂	Contrôle	6,01 ±0,766	0,94 ±0,2	62 ±5	32 ±4	4,8 ±0,9	0
	Clofibrate 250 mg/ Kg. / jour	5,41 ±0,92	0,93 ±0,2	68 ±4	27 ±3	3,5 ±0,74	0
	Composé I 50 mg/ Kg. / jour	6,11 ±0,772	0,57 ±0,229	76 ±6	21* ±5	1,93* ±0,685	0,07 ±0,07
	Composé I 125 mg/ Kg. / jour	5,75 ±0,628	0,875 ±0,279	83* ±2	15* ±2	0,62* ±0,16	0
	Composé I 250 mg/ Kg. / jour	6,194 ±0,473	1 ±0,366	80,5* ±3,63	17* ±3,15	0,875* ±0,532	0,06 ±0,06

* Ecart significatif par rapport au contrôle d'après la " t " de Student.

TABLEAU 4

LAPIN

Analyses sériques toxicité chronique du Composé I par rapport au Clofibrate chez le lapin.

S E X E	Traitement	Dose par jour mg/Kg	Lipides totaux mg/100 ml	Urée mg/100 ml	Protéines totales mg/100 ml
♀	Contrôle	-	392,4 ±14,47	41,4 ±3,11	5,49 ±0,18
	Clofibrate	250	375,8 ±39,85	38,1 ±2,85	5,60 ±0,05
	Composé I	50	456,4 ±30,95	37,6 ±3,43	6,12 ±0,25
		125	396,9 ±39,03	40,3 ±2,91	6,02 ±0,23
		250	397,6 ±24,88	40,1 ±1,63	5,39 ±0,11
	Contrôle	-	288,2 ±28,61	40,9 ±2,06	5,91 ±0,16
♂	Clofibrate	250	256,6 ±7,12	47,6 ±3,68	5,94 ±0,20
	Composé I	50	266,9 ±40,05	38,9 ±2,82	5,85 ±0,17
		125	305,5 ±48,11	42,5 ±2,01	5,79 ±0,05
		250	318,6 ±32,72	41,4 ±2,47	5,84 ±0,13
	Contrôle	-	288,2 ±28,61	40,9 ±2,06	5,91 ±0,16

(à suivre)

TABLEAU 4 (suite)

SEX	Traitement	Dose par jour mg/Kg	Phosphatases alcalines u/l	G.O.T. u/l	G.P.T. u/l
♀	Contrôle	-	78,9 ±11,35	28,2 ±4,05	15,35 ±1,125
	Clofibrate	250	68,6 ±7,09	20,5 ±2,4	17,89 ±1,272
	Composé I	50	54,9 ±5,66	28,6 ±3,23	21,86 ±2,441
		125	79,5 ±14,31	27,4 ±3,86	21,36 ±2,026
		250	65,3 ±6,26	26,1 ±2,67	20,89 ±1,898
♂	Contrôle	-	88 ±11,59	35,5 ±5,35	16,98 ±2,517
	Clofibrate	250	75 ±6,44	22,6 ±3,06	15,7 ±2,958
	Composé I	50	85,8 ±8,52	30,7 ±3,52	20,25 ±1,527
		125	74,5 ±8,75	36,8 ±6,24	20,78 ±1,533
		250	76,4 ±6,83	26 ±3,9	15,6 ±2,291

(à suivre)

- 19 - / **08733**
TABLEAU 4 (suite)

S E X E	Traitement	Dose par jour mg/Kg	Acide urique mg/100 ml	Cholestérol mg/100 ml	Glucose mg/100 ml
♀	Contrôle	-	0,78 ±0,1210	84,4 ±3	186,2 ±17,56
	Clofibrate	250	1,061 ±0,1008	67,8 ±11,3	169,4 ±13,21
	Composé I	50	0,71 ±0,079	95,9 ±10,34	167,8 ±13,22
		125	0,832 ±0,096	66,8 ±8,7	160,2 ±11,73
		250	0,746 ±0,142	77,9 ±8	205,6 ±14,12
♂	Contrôle	-	0,934 ±0,069	47 ±6,43	196,8 ±35,25
	Clofibrate	250	1,133 ±0,083	75,3 ±12,12	16,1 ±16,22
	Composé I	50	1,019 ±0,12	51,5 ±8,73	187 ±22,39
		125	0,9 ±0,070	56,6 ±6,79	158,1 ±13,25
		250	1,085 ±0,152	51,5 ±6,40	168,9 ±15,66

004722

B-3) : Dans les analyses urinaires, il est possible de distinguer :

1°) Les données qualitatives comme le sont les nitrites, protéines, glucose, corps cétoniques, urobilinogène, bilirubine et sang, lesquelles n'ont pas montré, non plus, de différences avec le groupe de contrôle.

2°) Les données quantitatives dont les résultats sont résumés dans le tableau 5 ci-après. Avec elles, on n'observe pas, non plus, de valeurs anormales dans les groupes traités.

884732

- 24 -

TABLEAU 5

S E X E	Traitement	Vol. d'urine ml/15h	Na p.p.m.	K p.p.m.	Ca p.p.m.	pH
♀	Contrôle	127 ±21	736 ±221	2896 ±482	1374 ±139	8,5 ±0,164
	Clofibrate 250 mg/Kg/ jour	172 ±47	836 ±243	3047 ±904	1645 ±384	8,62 ±0,157
	Composé I 50 mg/Kg/ jour	93,3 ±17,7	717,1 ±261,9	3042,1 ±551,2	1917,1 ±370,5	8,5 ±0,134
	Composé I 125 mg/Kg/ jour	142,7 ±24,7	649,4 ±86,2	2897,5 ±451,5	2453,7 ±356,9	8,31 ±0,21
	Composé I 250 mg/Kg/ jour	155,7 ±27,3	548,7 ±203,2	2440 ±407,1	1461,2 ±247,5	8,38 ±0,245
♂	Contrôle	113,7 ±35,56	757,5 ±193,0	3976,2 ±893,6	1370 ±255,1	8,25 ±0,299
	Clofibrate 250 mg/Kg/ jour	173,3 ±53,3	619,4 ±87,6	2468,7 ±443,0	1618,0 ±345,9	8,29 ±0,264
	Composé I 50 mg/Kg/ jour	192,6 ±56,1	727,5 ±157,0	1821,5 ±283,8	1207,5 ±252,8	8,5 ±0,134
	Composé I 125 mg/Kg/ jour	106,7 ±31,6	928,1 ±261,0	2115,2 ±350,3	1721,4 ±596,5	8,62 ±0,375
	Composé I 250 mg/Kg/ jour	107,3 ±26,7	435 ±61,4	2706,5 ±731,3	1475,7 ±261,5	8,8 ±0,09

0000000000

- 27 -

B-4) : Dans l'examen macroscopique anatomopathologique, on n'a pas observé de différences par rapport au groupe de contrôle.

Dans l'examen histopathologique, on peut dire qu'on n'observe pas de lésions répétitives qui fassent soupçonner une toxicité déterminée, sauf quelques lésions peu spécifiques et non complètement évaluables, de type rénal, observées dans les groupes du Clofibrate d'éthyle et du Composé I pour la dose plus élevée chez les mâles.

Il s'agit de petits foyers chroniques avec localisation corticale de type pyélonéphritique, encore qu'on n'observe pas d'inflammation dans la zone médullaire ni dans le bassin.

Toxicité chronique chez le rat

On a suivi le même protocole que dans la toxicité du lapin, sauf quelques différences.

On a utilisé des rats albinos Sprague Dawley en nombre de 24 par traitement, 12 mâles et 12 femelles.

Le traitement a été administré à la sonde oesophagienne, quotidiennement, à la dose de 10 ml/kg.

Le véhicule utilisé a également été administré au groupe de contrôle.

Les doses employées ont été les mêmes que celles qui ont été testées sur le lapin, soit : 50, 125 et 250 mg/kg pour le produit I, et 250 mg/Kg pour le Clofibrate d'éthyle, tandis que la période d'administration a aussi été de quatre mois.

Les examens pratiqués ont été les suivants :

A) Journallement :

Examen général de contrôle et de poids.

B) A la fin des quatre mois d'administration :

- Hématologiques.
- Biochimiques.
- Urinaires.
- Nécropsie et histopathologie.

Résultats et conclusions.

A) Durant le contrôle journalier, on n'a pas observé de modifications de la conduite et du poids entre les groupes traités et le groupe de contrôle.

B) Les résultats des analyses hématologiques et biochimiques sont résumés dans les tableaux 6, 7, 8 et 9 ci-après.

On n'observe pas d'altérations importantes dans aucun cas.

004722

RAT

SEX	Traitement	Dose par jour mg/Kg	Hématies $n \times 10^{-6}$ mm ³	Hémoglobine g/100ml	Hématocrite %	V.G.M. μ^3	H.G.M. $\mu\mu g$	C.M.H.G. %
♀	Contrôle	-	7,765 $\pm 0,286$	16,08 $\pm 0,47$	50,75 $\pm 2,18$	65,75 $\pm 2,87$	21 $\pm 1,07$	32,6 $\pm 2,04$
	Clofi-brate	250	7,490 $\pm 0,299$	14,32 $\pm 0,406$	41,3 $\pm 0,78$	55,87 $\pm 2,17$	19,1 $\pm 0,44$	34,47 $\pm 0,90$
	Composé I	50	7,760 $\pm 0,283$	15,75 $\pm 0,44$	50 $\pm 2,09$	65,2 $\pm 3,18$	20,7 $\pm 1,02$	32,1 $\pm 1,5$
		125	7,840 $\pm 0,360$	15,3 $\pm 0,62$	49,8 $\pm 1,7$	64,8 $\pm 3,4$	19,8 $\pm 0,878$	31,08 $\pm 1,47$
		250	7,900 $\pm 0,305$	15,4 $\pm 0,45$	51,2 $\pm 1,55$	65,8 $\pm 3,47$	19,8 $\pm 0,73$	30,3 $\pm 1,3$
	Contrôle	-	8,900 $\pm 0,250$	16 $\pm 0,39$	50,6 $\pm 1,2$	57,2 $\pm 2,4$	18,08 $\pm 0,81$	31,75 $\pm 0,95$
♂	Clofi-brate	250	8,669 $\pm 0,202$	14,745 $\pm 0,329$	47,545 $\pm 0,790$	55,06 $\pm 1,3$	17,11 $\pm 0,57$	31,72 $\pm 2,88$
	Composé I	50	8,715 $\pm 0,245$	16,417 $\pm 0,229$	50,833 $\pm 1,160$	58,5 $\pm 1,654$	19 $\pm 0,507$	32,417 $\pm 0,883$
		125	8,535 $\pm 0,280$	16,08 $\pm 0,43$	50,3 $\pm 1,17$	55,25 $\pm 4,6$	19,2 $\pm 0,89$	32,2 $\pm 1,08$
		250	8,860 $\pm 0,270$	15,75 $\pm 0,35$	51,2 $\pm 1,49$	58,08 $\pm 1,77$	18,08 $\pm 0,63$	31 $\pm 0,96$

TABLEAU 7

RAT

S E X E	Traitement	Dose par jour mg/Kg	V.S.G.		Temps de Quick sg
			1a. H mm	2a. H mm	
♀	Contrôle	-	1,04 ±0,1	1,67 ±0,19	14,8 ±1,53
	Clofibrate	250	0,55 ±0,05	1,10 ±0,12	11,0 ±0,26
	Composé I	50	0,96 ±0,14	1,42 ±0,21	14,3 ±1,65
		125	0,91 ±0,13	1,27 ±0,21	13,1 ±1,22
		250	0,80 ±0,13	1,40 ±0,21	13,7 ±10,63
♂	Contrôle	-	1,04 ±0,11	1,42 ±0,14	16,0 ±1,43
	Clofibrate	250	0,54 ±0,04	1,13 ±0,09	12,7 ±0,20
	Composé I	50	1,04 ±0,14	1,46 ±0,20	17,0 ±2,16
		125	1,58 ±0,60	2,17 ±0,73	15,8 ±2,14
		250	0,96 ±0,11	1,42 ±0,17	17,7 ±2,60

004722

RAT

S E X E	Traitement	Leuco- cytes $\frac{n \times 10^3}{mm^3}$	Eosino- phyles %	Lympho- cytes %	Neutro- phyles %	Monocy- tes %	Baso- phyles %
♀	Contrôle	8,158 $\pm 1,178$	2,182 $\pm 0,454$	69,454 $\pm 3,362$	21,954 $\pm 3,141$	6,227 $\pm 0,908$	0,1 $\pm 0,667$
	Clofibrate 250 mg/kg/jour	5,820 $\pm 0,385$	1,385 $\pm 0,270$	70,9 $\pm 4,196$	20,44 $\pm 3,293$	7,22	0
	Composé I 50 mg/kg/jour	7,400 $\pm 1,008$	1,125 $\pm 0,343$	76,292 $\pm 2,365$	15,225 $\pm 2,028$	7,208 $\pm 0,721$	0,125 $\pm 0,090$
	Composé I 125 mg/kg/jour	7,442 $\pm 1,079$	0,5 $\pm 0,151$	75,420 $\pm 2,351$	16,667 $\pm 1,561$	7,792 $\pm 0,936$	0,5 $\pm 0,222$
	Composé I 250 mg/kg/jour	7,505 $\pm 0,969$	0,722 $\pm 0,434$	64,389 $\pm 7,549$	29,222 $\pm 7,648$	5,389 $\pm 0,931$	0,167 $\pm 0,118$
♂	Contrôle	14,375 $\pm 0,997$	0,583 $\pm 0,245$	68,583 $\pm 3,031$	23,083 $\pm 3,339$	8,208 $\pm 0,856$	0,042 $\pm 0,042$
	Clofibrate 250 mg/kg/jour	9,264 $\pm 0,938$	0,818 $\pm 0,226$	75,727 $\pm 2,176$	16,5 $\pm 1,725$	6,864 $\pm 0,917$	0,091 $\pm 0,061$
	Composé I 50 mg/kg/jour	12,158 $\pm 1,563$	0,708 $\pm 0,242$	69,333 $\pm 2,707$	21,25 $\pm 2,339$	8,625 $\pm 1,339$	0,208 $\pm 0,114$
	Composé I 125 mg/kg/jour	14,225 $\pm 1,344$	0,5 $\pm 0,174$	75,917 $\pm 3,597$	17,385 $\pm 3,110$	6,208 $\pm 0,968$	0,125 $\pm 0,090$
	Composé I 250 mg/kg/jour	12,017 $\pm 1,180$	0,542 $\pm 0,199$	73,792 $\pm 1,776$	17,292 $\pm 1,679$	8,333 $\pm 1,242$	0,083 $\pm 0,056$

TABLEAU 9

RAT

S E X E	Traitement	Dose par jour mg/Kg	Lipides totaux mg/100 ml	Urée mg/100 ml	Protéines totaux mg/100 ml
♀	Contrôle	-	342,5 ±31,6	40,25 ±1,61	7,0 ±0,135
	Clofibrate	250	332,0 ±16,56	34,9 ±2,25	6,44 ±0,25
	Composé I	50	397,0 ±30,2	39,4 ±4,8	7,0 ±0,17
		125	331,6 ±41,1	35,4 ±2,2	6,9 ±0,21
		250	321,0 ±43,15	39,8 ±5,11	6,8 ±0,20
♂	Contrôle	-	374,0 ±28,4	31,5 ±1,11	6,9 ±0,16
	Clofibrate	250	345,1 ±20,0	32,6 ±3,0	6,4 ±0,12
	Composé I	50	428,3 ±24	34,4 ±2,2	6,75 ±0,13
		125	372,0 ±23,5	30,25 ±1,83	6,42 ±0,23
		250	405,0 ±42	35,8 ±4,0	6,4 ±0,15

(à suivre)

- 25 -

TABLEAU 9 (suite)

SEX	Traitement	Dose par jour mg/Kg	Phosphatases alcalines u/l	G.O.T. u/l	G.P.T. u/l
♀	Contrôle	-	80,25 ±9,1	50,5 ±3,2	11,0 ±0,74
	Clofibrate	250	62,0 ±6,77	46,3 ±1,8	7,02 ±0,61
	Composé I	50	62,3 ±8,9	50,7 ±2,61	12,5 ±0,80
		125	90,3 ±10,2	51,4 ±3,5	11,3 ±1,3
		250	96,5 ±11,6	52,1 ±4,3	14,1 ±3,15
	Contrôle	-	101,0 ±8,78	56,3 ±1,8	13,9 ±1,08
♂	Clofibrate	250	133,0 ±12,4	41,6 ±1,2	9,6 ±0,7
	Composé I	50	101,0 ±10,9	54,75 ±2,15	12,9 ±1,2
		125	137,0 ±14,9	53,0 ±3,9	12,75 ±1,6
		250	115,0 ±10	50,0 ±3,4	14,25 ±2,7
	Contrôle	-	101,0 ±8,78	56,3 ±1,8	13,9 ±1,08

(à suivre)

TABEAU 9 (suite)

SEX E	Traitement	Dose par jour mg/Kg	Acide urique mg/100 ml	Cholestérol mg/100 ml	
♀	Contrôle	-	2,74 ±0,21	75,5 ±8,05	
	Clofibrate	250	1,98 ±0,33	52,2 ±6,62	-
	Composé I	50	2,93 ±0,32	100,5 ±7,16	
		125	2,65 ±0,29	71,25 ±8,90	
		250	2,57 ±0,20	65,9 ±8,05	
♂	Contrôle	-	3,03 ±0,22	83,5 ±5,19	
	Clofibrate	250	2,85 ±0,30	61,1 ±10,0	
	Composé I	50	2,67 ±0,19	79,0 ±4,6	
		125	2,72 ±0,21	75,8 ±5	
		250	2,50 ±0,13	85,0 ±9,2	

204722

- 20 - 1

C) Les analyses qualitatives d'urine n'ont pas montré de différences par rapport au groupe de contrôle.

D) Les résultats des analyses quantitatives d'urine sont résumés dans le tableau 10 ci-après ; ces résultats ne font pas ressortir de modifications importantes par rapport au groupe de contrôle.

004722

- 34 -

TARIFAII 10

RAT

S E X E	Traitement	Vol. d'urine ml/15 h	Na p.p.m.	K p.p.m.	Ca p.p.m.	pH
♀	Contrôle	6,45 ±0,827	910 ±108	4135 ±513	93,33 ±14,37	7,41 ±0,29
	Clofibrate 250 mg / kg / jour	8,22 ±2,615	694 ±90	3510 ±404	181,80 ±37,42	6,65 ±0,42
	Composé I 50 mg / kg / jour	7,41 ±0,720	494 ±74	4644 ±387	98,18 ±18,08	7,50 ±0,15
	Composé I 125 mg / kg / jour	8,84 ±1,651	805 ±126	4070 ±676	105 ±14,22	7,66 ±0,27
	Composé I 250 mg / kg / jour	8,65 ±2,166	926 ±213	3935 ±598	75 ±7,49	7,45 ±0,34
♂	Contrôle	13,42 ±2,004	766 ±89	4434 ±629	38,33 ±6,25	7,62 ±0,23
	Clofibrate 250 mg / kg / jour	17,13 ±3,48	720 ±96	3843 ±430	111,11 ±31,83	7,09 ±0,50
	Composé I 50 mg / kg / jour	11,18 ±1,756	819 ±232	5863 ±1138	42,50 ±6,84	7,25 ±0,17
	Composé I 125 mg / kg / jour	12,28 ±2,045	784 ±167	6321 ±1204	44,58 ±7,24	7,37 ±0,26
	Composé I 250 mg / kg / jour	13,09 ±2,984	1097 ±294	5321 ±839	38,63 ±5,52	7,58 ±0,19

E) Dans l'examen histopathologique, on peut dire qu'à part quelques altérations accidentelles par pénétration médicamenteuse pulmonaire, il n'existe pas de lésions répétitives qui fassent soupçonner des lésions toxiques pharmacologiques.

Activité hypocholestérolémique

On a étudié l'activité hypocholestérolémique du nouveau produit I, chez le rat. Pour cela, on a administré préalablement aux animaux d'expérimentation, du TRITON WE 1339, un produit tensioactif qui provoque une mobilisation endogène du cholestérol, avec une augmentation sérique conséquente de celui-ci. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux 11 et 12 ci-après.

Le nouveau produit démontre une activité très accusée dans cet essai, beaucoup plus grande que le Clofibrate, surtout sur les animaux femelles, où à demi-dose on obtient une plus grande inhibition de l'effet hypercholestérolémisant du Triton et à dose égale, une activité deux fois supérieure.

TABEAU 11

Activité hypocholestérolémique du composé I et du Clofibrate d'éthyle sur l'hypercholestérolémie provoquée par le TRITON WR 1339, chez le rat mâle.

Traitement	Dose par jour mg/Kg	No. d'Animaux	Poids g	Cholestérol mg/100 ml	Inhibition par rapport au contrôle Triton %
Contrôle Blanc	-	10	269 ±14	103 ±5	-
Contrôle Triton	-	9	219 ±7	343 ±14	-
Clofibrate d'éthyle	400	9	215 ±3	326 ±9	5
Composé I	200	10	228 ±6	312 ±15	9
Composé I	400	10	228 ±7	289 * ±11	16

* Ecart significatif par rapport au Triton pour p = 0,01.

TABLEAU 12

Activité hypocholestérolémique du Composé I et du Clofibrate d'éthyle sur l'hypercholestérolémie communiquée par le TRITON WR 1339, chez le rat femelle.

Traitement	Dose par jour mg/Kg	Nb. d'animaux	Poids g	Cholestérol mg/100 ml	Inhibition par rapport au contrôle Triton %
Contrôle Blanc	-	10	228,4 ± 5,48	74,7 ± 4,85	-
Contrôle Triton	-	10	228,7 ± 5,00	423,4 ± 19,30	-
Clofibrate d'éthyle	400	10	219,9 ± 4,03	375,8 * ± 13,48	11,2
Composé I	200	10	224,7 ± 5,13	364,2 ** ± 13,29	14
Composé I	400	10	229,4 ± 4,29	321,4 *** ± 25,03	24,1

- * Ecart significatif avec le contrôle de Triton pour $p = 0,05$
- ** Ecart significatif avec le contrôle de Triton pour $p = 0,01$
- *** Ecart significatif avec le contrôle de Triton pour $p = 0,001$

Activité hypolipémiant

Pour faciliter l'exposé des diverses données qui sont fournies ci-après, le présent mémoire est accompagné de cinq feuilles de dessins, dans lesquels les diverses figures sont des graphiques représentant les résultats obtenus.

On a étudié l'activité hypolipémiant du nouveau produit I, en utilisant comme contrôle des rats hyperlipémisés avec de l'huile d'olive. On a étudié les niveaux de cholestérol, lipides totaux et triglycérides, durant 24 heures. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 13 ci-après et dans les figures 1, 2 et 3.

La figure 1 correspond au graphique des lipides totaux ; la figure 2 correspond au graphique des triglycérides ; et la figure 3 correspond au graphique du cholestérol. Dans ces trois figures, l'axe d'ordonnées (axe vertical) est gradué pour indiquer les valeurs obtenues par les expériences et analyses, exprimées en mg/100 ml ; et, sur l'axe des abscisses (axe horizontal), on indique le temps écoulé en heures.

Dans la figure 1, la ligne 1 correspond aux données obtenues du contrôle ; la ligne 2 correspond aux données obtenues avec la dose de 200 mg/Kg de produit I ; et la ligne 3 correspond aux données obtenues avec des doses de 400 mg/Kg de produit I.

Dans la figure 2, la ligne 4 correspond au contrôle ; la ligne 5 correspond à la dose de 200 mg/kg ; la ligne 6 correspond à la dose de 400 mg/Kg.

Dans la figure 3, les lignes 7, 8 et 9 correspondent, respectivement, au contrôle et aux doses de 200 mg/Kg et 400 mg/Kg.

L'amplitude des courbes des groupes traités avec les différentes doses du produit I est réellement inférieure à celle du groupe de contrôle.

La réduction des taux de cholestérol, lipides et triglycérides chez les animaux traités avec le produit I, atteint respectivement des valeurs de 20, 30 et 32 % par rapport à celle du groupe d'animaux de contrôle.

004720

TAB. 13

RAT

Traitement	Analyse de ...	3 h	6 h	9 h	12 h
Contrôle	Cholestérol	92 ±4	63 ±6	98 ±8	74 ±6
	Lipides totaux	760 ±127	823 ±89	980 ±139	738 ±204
	Triglycérides	206 ±24	372 ±48	557 ±69	319 ±171
Composé I 200 mg/Kg	Cholestérol	104 ±2	76 ±8	85 ±4	58 ±5
	Lipides totaux	571 ±37	474 ±69	715 ±117	814 ±157
	Triglycérides	174 ±21	201 ±31	408 ±141	362 ±125
Composé I 400 mg/Kg	Cholestérol	99 ±8	73 ±2	110 ±13	86 ±6
	Lipides totaux	528 ±9	610 ±157	647 ±101	599 ±131
	Triglycérides	165 ±8	291 ±124	263 ±42	128 ±31

(à suivre)

88702

- 38 -

TABLEAU

13

(suite

)

Traitement	Analyse de ...	15 h	18 h	21 h	24 h
Contrôle	Cholestérol	.99 ±17	48 ±3	59 ±9	64 ±5
	Lipides totaux	781 ±82	503 ±132	611 ±226	579 ±75
	Triglycérides	208 ±46	172 ±36	113 ±14	190 ±28
Composé I 200 mg/Kg	Cholestérol	45 ±4	34 ±4	39 ±4	41 ±4
	Lipides totaux	464 ±41	289 ±23	305 ±37	395 ±43
	Triglycérides	187 ±47	136 ±18	130 ±14	163 ±22
Composé I 400 mg/Kg	Cholestérol	57 ±5	49 ±2	32 ±5	47 ±4
	Lipides totaux	562 ±58	380 ±62	322 ±22	465 ±63
	Triglycérides	203 ±49	151 ±50	142 ±19	199 ±34

(à suivre

)

004722

- 328 -

TABLEAU 13 (suite)

Traitement	Analyse de...	Aire de la courbe	Inhibition par rapport au contrôle %
Contrôle	Cholestérol	15.120	-
	Lipides totaux	14.910	-
	Triglycérides	11.205	-
Composé I 200mg/Kg	Cholestérol	12.120	20
	Lipides totaux	10.507	30
	Triglycérides	9.390	16
Composé I 400 mg/Kg	Cholestérol	14.085	7
	Lipides totaux	10.830	27
	Triglycérides	7.650	32

Activité hypocholestérolémique et hypolipémique

On a communiqué une hypercholestérolémie et une hyperlipémie à des lapins albinos au moyen d'une alimentation hyperlipémique. Après cela, on a administré le produit I, aux doses de 150 et 308 mg/Kg, qui représentent des doses équipondérales et équimoléculaires par rapport au Clofibrate d'éthyle qu'on a administré à la dose de 150 mg/Kg.

L'administration a été faite quotidiennement, pendant trois semaines, à la fin desquelles on a procédé à des analyses de cholestérol, triglycérides et lipides totaux.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 14 ci-après, et dans les figures 4, 5 et 6 des dessins ; ces résultats démontrant la bonne activité du produit I dans les trois paramètres étudiés.

La figure 4 est le graphique relatif au cholestérol total, lequel se trouve indiqué sur l'axe d'ordonnées et est exprimé en mg/100 ml. Sur l'axe des abscisses, on a indiqué la durée des expériences exprimées en jours, soit un total de 38 jours divisé en deux périodes : une première période de 17 jours d'inoculation de l'hypercholestérolémie et de l'hyperlipémie et une deuxième période de traitement de 21 jours. La ligne 10 correspond à l'expression graphique des données obtenues sur le contrôle hyperlipémique ; la ligne 11 correspond aux données obtenues avec l'administration de Clofibrate d'éthyle à la dose de 150 mg/Kg par jour ; la ligne 12 correspond aux données obtenues avec l'administration de doses journalières de 150 mg/Kg de produit I ; et la ligne 13 correspond aux données obtenues avec l'administration de doses journalières de 308 mg/Kg de produit I.

La figure 5 est le graphique du dosage de lipides totaux dont la valeur se trouve graduée sur l'axe d'ordonnées, exprimée en mg/100 ml. L'axe des abscisses est identique à celui de la figure 4, et comprend un total de 38 jours dont les 17 premiers correspondent à la période d'inoculation et les 21 restants à la période de traitement. La ligne 14 correspond à l'expression graphique des données obtenues sur le contrôle hyperlipémique, et les lignes 15, 16 et 17 correspondent aux doses journalières, respectivement, de 150 mg/Kg de Clofibrate d'éthyle ; 150 mg/Kg de produit I ; et 308 mg/Kg de produit I.

La figure 6 est le graphique du dosage de triglycérides dont la valeur est portée sur l'axe des ordonnées et est exprimée en mg %. L'axe d'abscisses est identique à celui des figures 4 et 5 précédemment décrites. La ligne 18 a été tracée avec les données obtenues du contrôle hyperlipémique, et les lignes 19, 20 et 21 correspondent aux doses journalières, respectivement, de 150 mg/Kg de Clofibrate d'éthyle ; 150 mg/Kg de produit I ; et 308 mg/Kg de produit I.

Chez les animaux traités avec le produit I, par rapport au groupe de contrôle, on constate des réductions de 33, 26 et 39 %, respectivement, des taux de cholestérol, lipides et triglycérides, à la dose de 150 mg/Kg.

Le produit I s'avère plus actif dans la réduction du cholestérol et dans la réduction des lipides totaux par rapport au clofibrate d'éthyle administré à la même dose, avec des gains de 37 % et de 25 %, respectivement, dans ces diminutions.

TABLEAU 14

LAPIN AUBIN

Résultats des analyses après le traitement.

Traitement	Dose par mg/Kg	Cholestérol mg %	Activité sur le cholestérol par rapport au contrôle %	Lipides totaux mg %
Contrôle	-	749 ±87	-	2104 ±237
Clofibrate d'éthyle	150	797 ±119	6	2084 ±250
Composé I	150	500 ±80	33	1558 ±208
Composé I	308	535 ±75	29	1720 ±217

(à suivre)

- 42 -
K

TABLEAU 14 (suite)

Traitement	Dose par jour	Activité sur les lipides par rapport au contrôle	Triglycérides		Activité sur les triglycé- rides par rapport au contrôle
	mg/Kg	%	mg	%	%
Contrôle	-	-	244 ±57		-
Clofibrate d'éthyle	150	1	119 ±16		51
Composé I	150	26	150 ±23		39
Composé I	308	18	170 ±13		30

- 43 -
Tératologie

On a réalisé une étude post-natale sur deux espèces animales : lapin et rat, par voie orale.

Chez le lapin, l'administration du produit a été faite du 6^{ème} au 18^{ème} jour de la gestation et, au 30^{ème} jour, on a pratiqué l'hystérectomie.

Chez le rat, l'administration du produit a été faite du 6^{ème} au 16^{ème} jour de la gestation, et l'hystérectomie a été pratiquée le 20^{ème} jour.

I - Examens pratiqués pendant la gestation :

- Contrôle du poids.
- Observation du comportement.

II - Examens pratiqués après l'hystérectomie :

- Comptage du nombre de réabsorptions, implantations, avortements et foetus.
- Poids des foetus.
- Observation macroscopique des foetus, sexe...
- Conservation de 1/3 des foetus pour l'étude de la structure anatomique.

Coloration du système osseux des 2/3 restants des foetus pour étude squelettique.

Les résultats de tous les paramètres étudiés ne révèlent pas de différences par rapport au groupe de contrôle, ni chez le rat, ni chez le lapin.

Pharmacocinétique

Outre les études d'activité pharmacologique qui viennent d'être décrites, on a réalisé une étude pharmacocinétique chez le rat, après administration du nouveau produit I par voie orale et endoveineuse.

Par voie orale, on a trouvé que le principal produit du métabolisme, l'acide clofibrique, présente un maximum d'absorption au bout de 3 heures 1/2 après son administration, ce qui est clairement visible sur le graphique de la figure 7.

L'acide clofibrique s'élimine par excrétion urinaire, principalement comme produit biotransformé conjugué avec l'acide glucuronique et d'autres acides organiques.

Les analyses dans le sang et dans les urines ont été réalisées en utilisant la technique analytique par chromatographie gaz-liquide.

Dans la figure 7 précitée, la ligne 22 est la courbe correspondante à l'acide clofibrique ; l'axe des ordonnées représente sa valeur en mg/ml de sérum ; l'axe des abscisses est divisé en heures. La dose du produit I administrée est de 50 mg/Kg, par voie orale.

L'autre produit du métabolisme, l'acide nicotinique présente un maximum d'absorption au bout d'une demi-heure suivant son administration et 30 % de ce produit sont éliminés après 24 heures, par voie urinaire. Le graphique illustré à la figure 8 représente ce résultat : la ligne 23 est la courbe de l'acide nicotinique ; l'axe des ordonnées représente sa valeur en mg/ml de sérum ; l'axe des abscisses est divisé en heures. La dose de produit I administrée est de 50 mg/Kg, par voie orale.

Pour expliquer la différence de comportement entre le produit I et le Clofibrate d'éthyle dans les essais pharmacologiques, on a procédé aux essais pharmacocinétiques suivants :

A) A un lot d'animaux, on a administré le produit I à la dose de 50 mg/Kg, par voie orale.

B) A un autre lot d'animaux, on a administré 21,42 mg/Kg d'acide clofibrique conjointement avec 24,5 mg/Kg d'acide nicotinique ; valeurs qui correspondent aux quantités d'acide clofibrique et d'acide nicotinique contenues dans 50 mg/Kg de produit I.

La courbe des niveaux hématiques obtenue par l'administration du produit I montre un maximum d'absorption de l'acide Clofibrique inférieur à celui obtenu par l'administration d'acide Clofibrique et d'acide nicotinique. Cela expliquerait que la DL₅₀ du produit I soit plus grande et, par conséquent, moins toxique. Ainsi même la phase d'élimination est également différente dans les deux cas, malgré le fait d'avoir une B (pente) ressemblante. Ceci est dû au fait que B₀ (intersection de la ligne d'élimination avec l'axe d'ordonnées) est plus grand pour le produit I et, partant, le niveau hématique de celui-ci se maintient à un taux plus élevé pendant l'élimination. Ceci est exprimé graphiquement à la figure 9 des dessins, dans laquelle : la ligne 24 est la courbe qui représente les données obtenues sur le lot de rats auxquels on a administré 21,42 mg/Kg d'acide clofibrique plus 24,5 mg/Kg d'acide nicotinique, par

00472

- 45 -

voie orale ; la ligne 25 est la courbe qui représente les données obtenues sur le lot de rats auxquels on a administré 50 mg/Kg de produit I, par voie orale. Sur l'axe des ordonnées, sont portées les valeurs d'acide clofibrigue exprimées en mg/ml de sérum, tandis que l'axe des abscisses est divisé en heures.

D'un point de vue pharmacologique, ce fait pourrait expliquer l'activité supérieure du produit I par rapport au Clofibrate d'éthyle vérifiée lors des essais réalisés pour mettre en évidence l'activité hypolipémiante et hypocholestérolémiante du nouveau produit I.

APPLICATIONS THERAPEUTIQUES

Le nouveau médicament, dont le procédé d'obtention fait l'objet du présent brevet d'invention, est efficace, en principe, pour le traitement de patients ayant des niveaux élevés de triglycérides plasmatiques (VLDL). La thérapie avec ce produit pourrait être efficace surtout pour le traitement de l'hyperlipoprotéïnémie de type III donnant lieu à une chute considérable des niveaux lipidiques. Normalement, les effets hypolipidémiques de la thérapie avec ce produit sur des patients atteints d'hyperlipoprotéïnémie de type III, seront accompagnés de la résolution des xanthomes tuboéruptifs et planaires.

GALENIQUE

Le composé de formule : 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane (I) peut être mélangé à des excipients inertes dans les proportions adéquates pour former différentes compositions pharmaceutiques, lesquelles peuvent être administrées par voie orale, pour le traitement de dislipémies d'origine primaire ou secondaire.

Les compositions pharmaceutiques peuvent se présenter sous forme de gélules, comprimés, dragées, sirops en suspension et

804722

- 46 -

suspensions extemporanées, pour être administrées à des adultes ; avec une posologie comprise entre 1-2 grammes journaliers, en prises de 500 mg ou de 250 mg.

Toutes les formes d'utilisation pharmaceutique susmentionnées peuvent être préparées par les procédés usuels de pharmacotechnique.

A titre d'exemples représentatifs et non limitatifs, on décrit ci-après des formes galéniques de présentation du médicament selon l'invention aux doses de 500 mg et 250 mg, respectivement :

Présentation en gélules

1°) Gélules de 500 mg :

Chaque gélule du N° 0 contient :

2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate	500 mg
de trihydroxipropane	
Talc	58 mg
Magnésium stéarate	12 mg

2°) Gélules de 250 mg :

Chaque gélule du N° 0 contient :

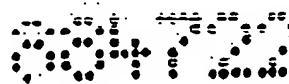
2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate	250 mg
de trihydroxipropane	
Talc	58 mg
Magnésium stéarate	12 mg

Présentation en comprimés

1°) Comprimés de 500 mg :

Chaque comprimé contient :

2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate	500 mg
de trihydroxipropane	
Amidon	70 mg
Plastone	7,5 mg
Magnésium stéarate	6 mg
Encompres	34 mg
Primogel	12,5 mg



2°) Comprimés de 250 mg :

Chaque comprimé contient :

2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane	250 mg
Amidon	110 mg
Lactose	24 mg
Encompres	90 mg
Magnésium Trisilicate	50 mg
Plasdone	16 mg
Talc	10 mg

Présentation en dragées

1°) Dragées de 500 mg :

Chaque dragée contient :

2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane	500 mg
Amidon	47,5 mg
Agar-Agar	49 mg
Magnésium stéarate	9 mg
Plasdone	3,5 mg
Excipient pour dragéification colorée	200 mg
TOTAL	820 mg

2°) Dragées de 250 mg :

Chaque dragée contient :

2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane	250 mg
Amidon	47,5 mg
Agar-Agar	40 mg
Magnésium stéarate	9 mg
Plasdone	3,5 mg
Excipient pour dragéification colorée	350 mg
TOTAL	700 mg

054722

- 48 - /

Présentation en sirops en suspension

1°) Sirop - Suspension à 5 %

Composition centésimale :

2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate	5	g
de trihydroxypropane	0,42	g
Phosphate monopotassique	0,18	g
Phosphate disodique hydraté	0,26	ml
Essence d'anis et citron a.a.		
Sirop simple avec émulsif et	100	ml
conservant c.s.a.		

2°) Sirop - Suspension à 2,5 %

Composition centésimale :

2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate	2,5	g
de trihydroxypropane	0,42	g
Phosphate monopotassique	0,18	g
Phosphate disodique hydraté	0,26	ml
Essence d'anis et mandarine a.a.		
Sirop simple avec émulsif et	100	ml
conservant c.s.a.		

Présentation en suspensions extemporanées

1°) Contenu d'un sachet de 500 mg :

2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate	500	mg
de trihydroxypropane	10	mg
O-sulfimide benzoïque sodique	100	mg
Cyclohexyl sulfamate sodique	25	mg
Talc	3500	mg
Sucre	0,08	ml
Essence d'anis et citron a.a.		

804722

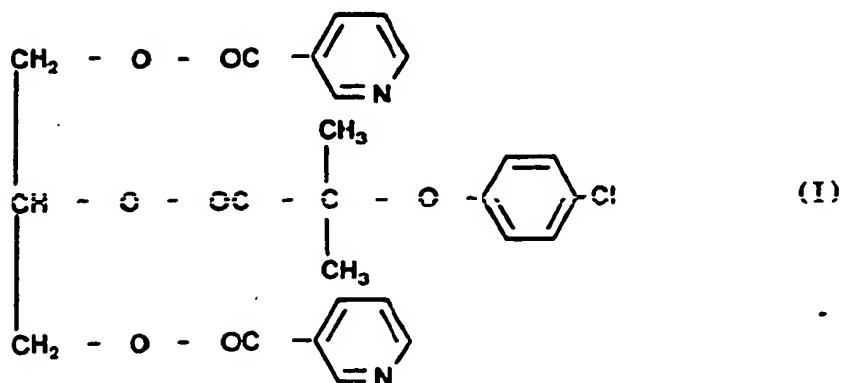
- 4 - X

2°) Contenu d'un sachet de 250 mg :

2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane	250	mg
O-sulfimide benzoïque sodique	10	mg
Cyclohexyl sulfamate sodique	100	mg
Talc	25	mg
Sucre	3500	mg
Essence d'anis et mandarine a.a.	0,08	ml

REVENDICATIONS

1. Nouveau composé, caractérisé par la formule (I) :



2. Nouveau composé selon la revendication 1, caractérisé par le fait qu'il s'identifie comme étant le 2-p-chlorophénoxyisobutyrate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane.

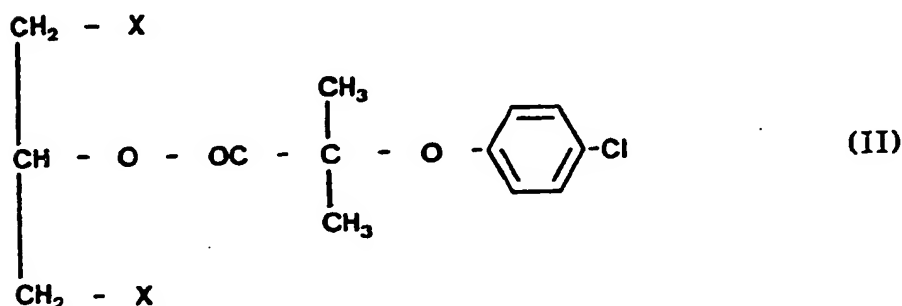
3. Procédé d'obtention du nouveau composé suivant les revendications 1 ou 2, caractérisé par le fait qu'on fait réagir, dans une réaction d'estérification, l'acide p-chlorophénoxyisobutyrique (IV).



avec le 1,3 dihalogène-2-propanol (III)



dans un milieu inerte (tel que le benzène, toluène, xylène, ou autres) avec des catalyseurs convenables et avec des moyens appropriés de captage de l'eau produite dans la réaction, en obtenant ainsi un composé intermédiaire dénommé 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1',3' dihalogène-isopropyle (II) :



on fait ensuite réagir ledit composé intermédiaire 2-p-chlorophénoxyisobutyrate de 1',3' dihalogène-isopropyle (II) avec le sel nicotinique d'un métal alcalin.

4. Composition pharmaceutique caractérisée par le fait qu'elle comprend, comme principe actif, le composé selon l'une des revendications 1 ou 2, conjointement avec les excipients pharmaceutiques adéquats.

5. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient, comme principe actif, le composé obtenu par la mise en oeuvre du procédé selon la revendication 3, conjointement avec les excipients pharmaceutiques appropriés.

00722

1

6. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 4 ou 5, caractérisée par son emploi dans le traitement de l'athérosclérose, de l'hyperlipoprotéïnémie de type III et, d'une façon générale, des maladies causées par des niveaux élevés de triglycérides plasmatiques (VLDL).

7. 2-p-chlorophénoxyisobutirate-1,3-dinicotinate de trihydroxypropane, substantiellement tel que décrit précédemment, et illustré aux dessins annexés.

p. pon de : Société dite : SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
ESPECIALIDADES FARMACO-TERAPEUTICAS, S.A.

Anvers, le 12 août 1980.

p.pon de : Bureau des Brevets et des
Marques M.F.J. Bockstael.

Intecell.

Société dite: SOCIÉDAD ESPAÑOLA DE ESPECIALIDADES
FARMACO-TERAPEUTICAS, S.A.

B2 1/55
 B1 1.5.

FIG. 1

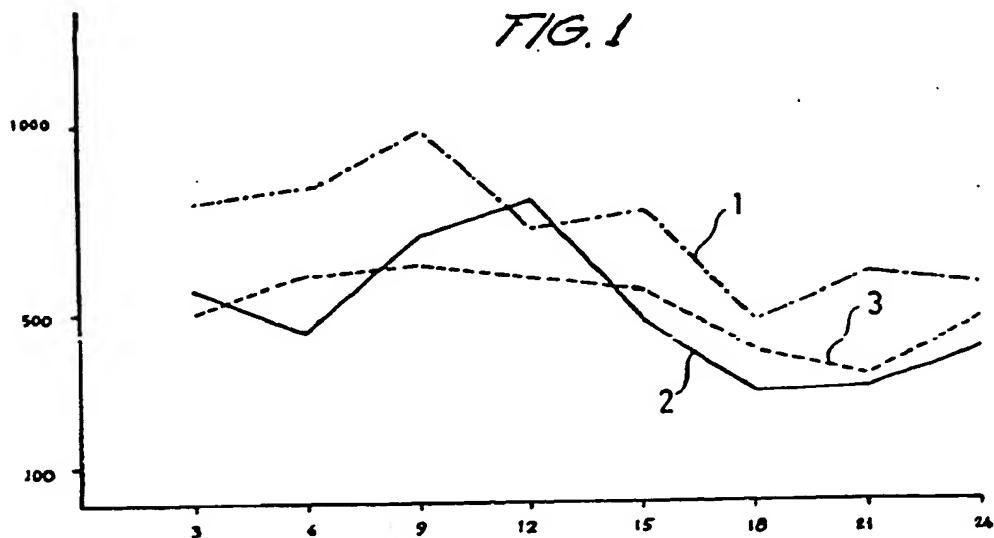
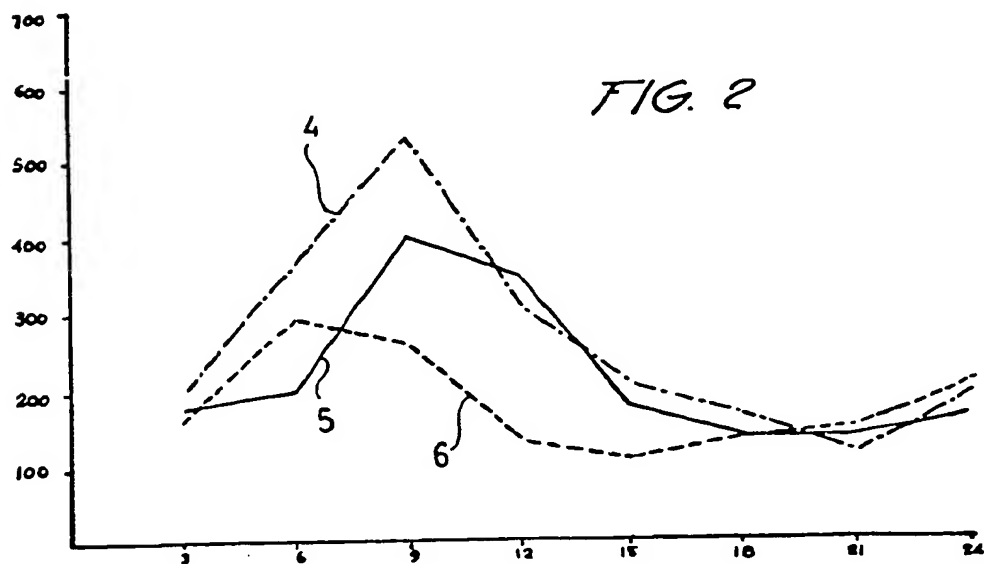


FIG. 2



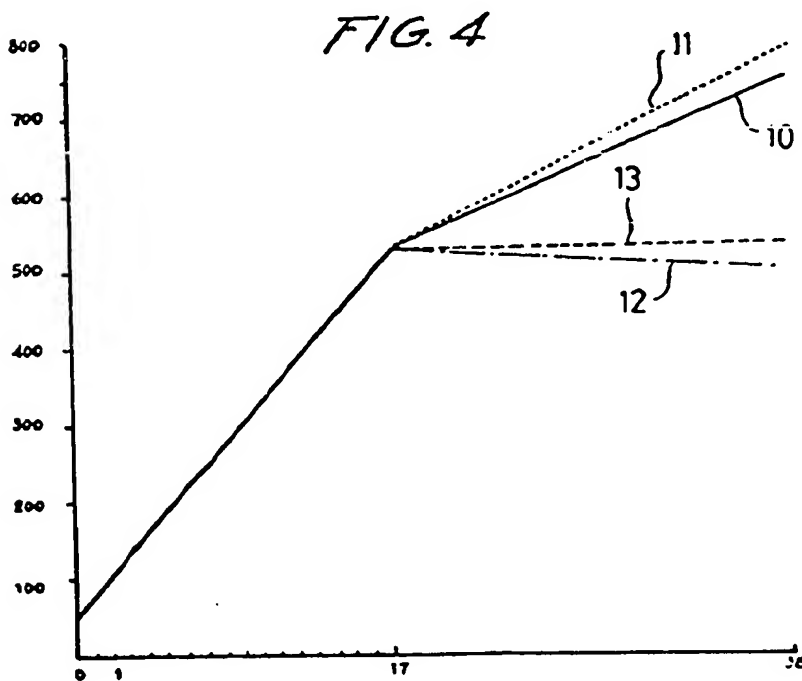
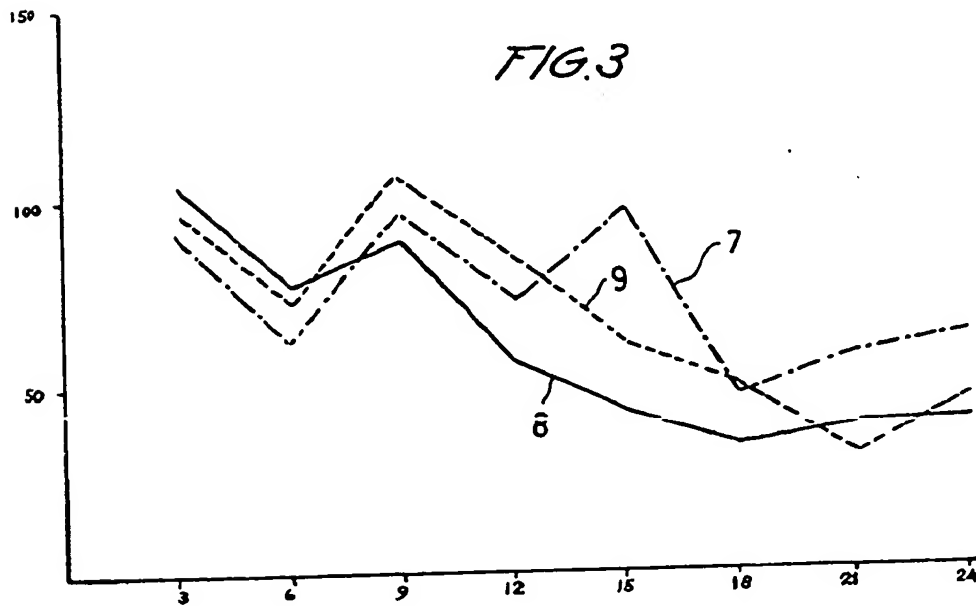
p.pon de : Société dite: SOCIÉDAD ESPAÑOLA DE ESPECIALIDADES
FARMACO-TERAPEUTICAS, S.A.
 Anvers, le 12 août 1980.

p.pon de : Bureau des Brevets et des Marques M.F.J. Bockstae

884722

Pl. 2.5.

Société dite: SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ESPECIALIDADES FARMACOTERAPEUTICAS, S.A.

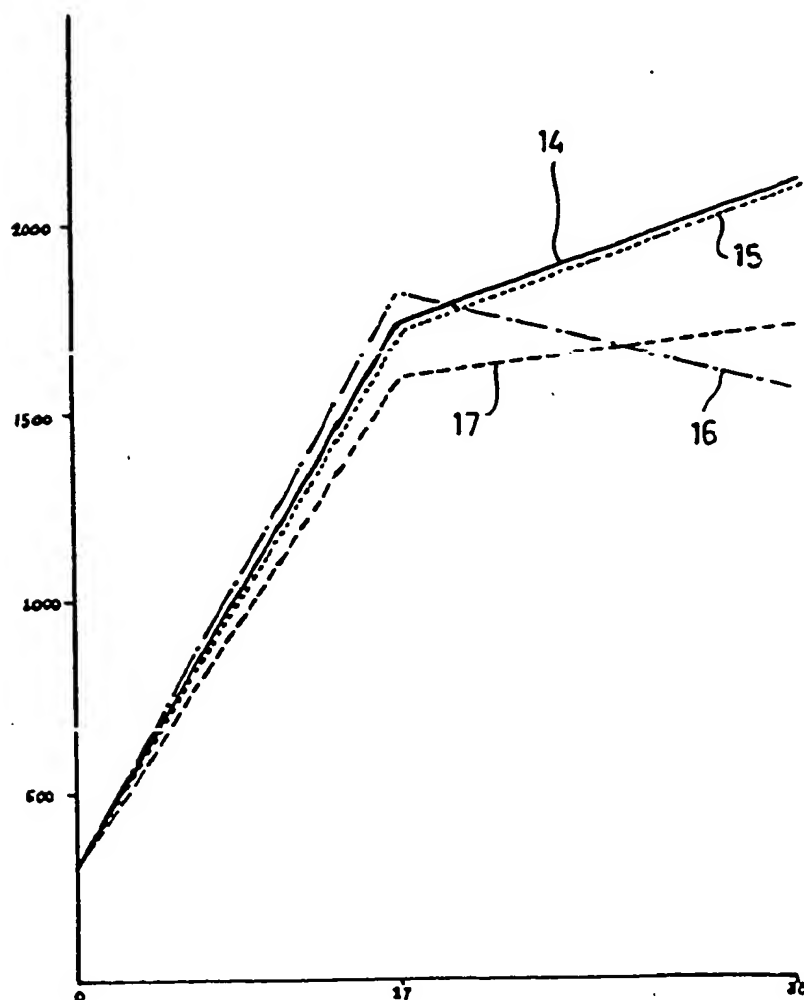


BR 4559

Pl. 3.5.

Société dite: SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ESPECIALIDADES
FARMACO-TERAPEUTICAS, S.A.

FIG. 5



p.pon de : Société dite: SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ESPECIALI-
DADES FARMACO-TERAPEUTICAS, S.A.
Anvers, le 12 août 1980

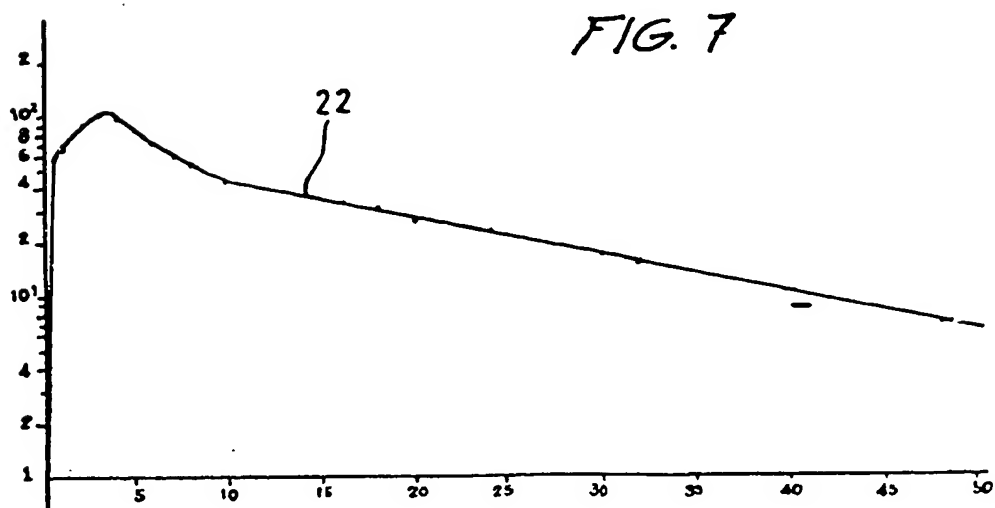
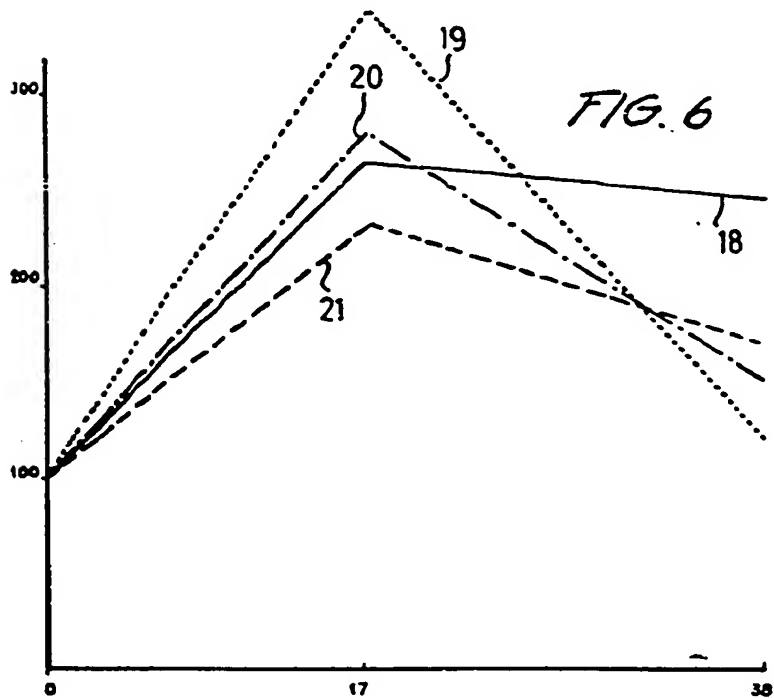
p.pon de : Bureau des Brevets et des Marques
M.F.J. Bockstaël.

Talbot

88722

El. 4.5.

Société dite: SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ESPECIALIDADES
FARMACO-TERAPEUTICAS, S.A.



1

FIG. 8

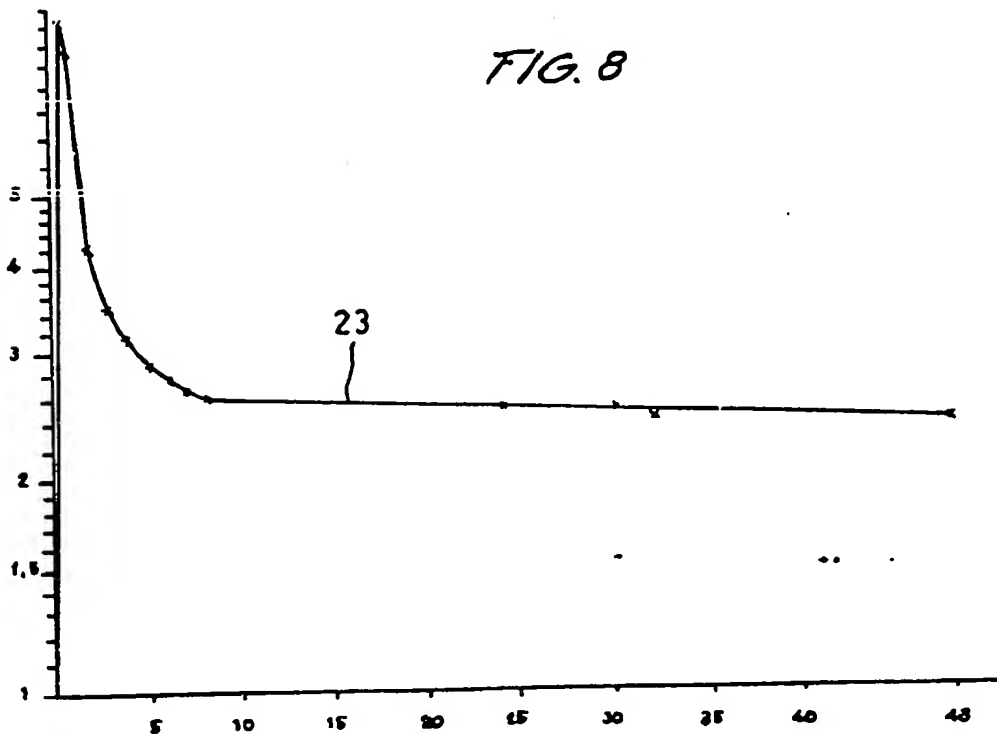
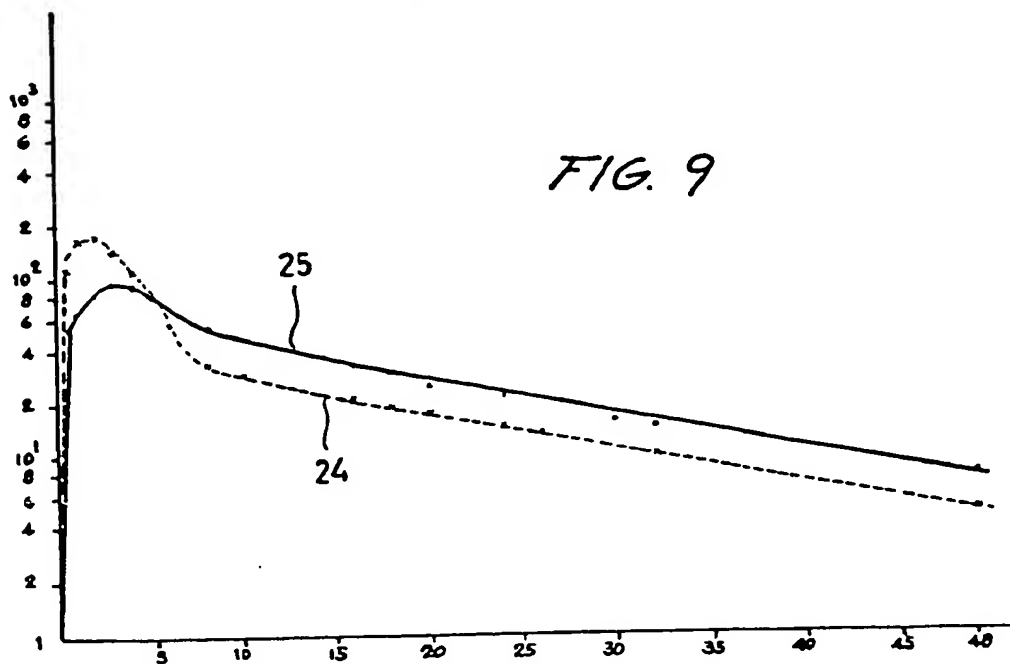


FIG. 9



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☒ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.